

بررسی تفاوت دو جنس در اثر حفاظتی آماده‌سازی بعدی بر آسیب حاد کلیوی ناشی از ایسکمی - پرفیوژن مجدد در موش صحرایی

چکیده

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۲/۰۴/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۵/۲۶

زمینه و هدف: مطالعات نشان داده‌اند که بین دو جنس در تحمل ضایعات ناشی از ایسکمی - پرفیوژن مجدد (Ischemia Reperfusion, IR) در کلیه تفاوت وجود دارد. آماده‌سازی بعدی (Postconditioning, POC) از جمله روش‌های نوینی است که جهت کاهش آسیب ناشی از IR در کلیه مطرح شده است. با توجه به تاثیر جنسیت در میزان موفقیت روش‌های درمانی، بر آن شدیم تا به تفاوت دو جنس در اثر حفاظتی POC در کلیه رت بپردازیم. **روش بررسی:** حیوانات پس از نقرکتومی راست در شش گروه هشت تایی قرار گرفتند: در گروه IR، با استفاده از کلمپ بولداگ، ۴۵ دقیقه ایسکمی شریان کلیوی چپ و پس از آن پرفیوژن مجدد القا شد. در گروه Sham به استثناء انسداد شریانی، بقیه اعمال فوق انجام شد. در گروه POC، ۴۵ دقیقه ایسکمی القا شد و سپس چهار دوره ۱۰ ثانیه‌ای متناوب IR القا شد. ۲۴ ساعت بعد، پلاسما و بافت کلیه جمع‌آوری شد.

یافته‌ها: در رت‌های نر POC به واسطه کاهش معنادار نیتروژن اوره خون و کراتینین نسبت به گروه IR سبب بهبود عملکرد کلیه گردید ($P < 0.05$). هم‌چنین POC توانست با کاهش سطح مالون دی‌آلدهید (MDA) و افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز (SOD)، سبب بهبود استرس اکسیداتیو کلیه در رت‌های نر گردد ($P < 0.05$). در رت‌های ماده هیچ‌کدام از شاخص‌های فوق در گروه POC تفاوت معناداری با گروه IR نداشت.

نتیجه‌گیری: در مقایسه بین دو جنس، POC در کلیه رت‌های نر با بهبود شاخص‌های عملکردی و کاهش استرس اکسیداتیو در مقابل آسیب ناشی از IR اثر حفاظتی دارد. این اثر حفاظتی در کلیه رت‌های ماده دیده نشد.

کلمات کلیدی: تفاوت بین دو جنس، کلیه، ایسکمی، آماده‌سازی بعدی.

عاطفه محمودی^۱، مهری کلخدایی^{۱*}
فرشته گلاب^۲، عاطفه نجفی^۳
زهرا صداقت^۴، پرینا احقری^۱

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۲- مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشگاه علوم پزشکی ایران، دانشکده پزشکی، تهران، ایران.

۳- گروه آناتومی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.

۴- گروه فیزیولوژی و فارماکولوژی دانشگاه پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بوشهر، بوشهر، ایران.

* نویسنده مسئول: تهران، خیابان پورسینا، دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی، گروه فیزیولوژی.

تلفن: ۰۲۱-۶۴۰۵۳۲۸۸

E-mail: kakhodm@tums.ac.ir

مقدمه

دنبال ایسکمی - پرفیوژن مجدد (Ischemia Reperfusion, IR) نام برد. در برخی گزارش‌ها شیوع بیش‌تر آسیب حاد کلیوی (Acute Kidney Injury, AKI) و میزان عوارض بالاتر آن در جنس مذکر به اثبات رسیده است.^۱ به نظر می‌رسد استفاده از این موضوع که بیماری‌های کلیوی و از جمله آسیب ناشی از ایسکمی کلیوی وابسته به جنسیت هستند در آینده نزدیک در کلینیک مورد استفاده قرار گیرد.^۲ ایسکمی در کلیه‌ها بر اثر انسداد شریان کلیوی، شوک و پیوند اعضا رخ می‌دهد که می‌تواند سبب مرگ سلول‌های کلیوی، نارسایی کلیه و رد پیوند کلیه گردد.^{۳،۴} مطالعات متعددی برای یافتن راه‌های

مطالعات اخیر نقش مهم و کلیدی جنسیت را در آسیب‌های بافتی ناشی از ایسکمی در ارگان‌های مختلفی از جمله قلب، مغز و کبد مطرح کرده‌اند.^{۱-۳} با دقت در مطالعات انسانی و حیوانی در می‌یابیم که میزان پیشرفت بیماری‌های کلیوی نیز تحت تاثیر جنسیت است.^۴ تفاوت بین دو جنس در یافته‌های کلینیکی ناشی از آسیب‌های کلیوی حداقل از ۷۰ سال پیش مورد توجه بوده است.^۵ شاید بتوان بارزترین مثال را برای تفاوت بین دو جنس در کلیه، در آسیب حاد کلیوی به

کاهش آسیب ناشی از IR می‌باشد.^{۲۱} با توجه به تاثیر جنسیت در نتایج روش‌های درمانی مختلف، در این تحقیق بر آن شديم تا تفاوت دو جنس در اثر حفاظتی آماده‌سازی بعدی بر آسیب حاد کلیوی ناشی از ایسکمی - پرفیوژن مجدد را از طریق مقایسه تغییرات عملکردی کلیه و شاخص استرس اکسیداتیو کلیوی در موش صحرایی بررسی کنیم.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۱ در گروه فیزیولوژی دانشکده پزشکی دانشگاه تهران به انجام رسید.

حیوانات: تعداد ۲۴ سر رت نر و ۲۴ سر رت ماده از نژاد ویستار در محدوده وزنی ۳۰۰-۲۵۰ گرم به طور تصادفی انتخاب شدند. رت‌ها در دمای استاندارد و در شرایط محیطی ۱۲ ساعت روشنائی و ۱۲ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند و در تمام طول آزمایش از نظر مصرف آب و غذا محدودیتی نداشتند. مسایل اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی نظیر بیهوشی به هنگام جراحی براساس استانداردهای کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی تهران به گونه‌ای رعایت شد که حتی‌الامکان موجب درد و رنج حیوان نگردد.

گروه‌های مورد مطالعه: حیوانات مورد مطالعه به طور تصادفی به شش گروه هشت تایی و به قرار زیر تقسیم شدند:

- ۱- شم ایسکمی ماده، (ایسکمی ۴۵ دقیقه + پرفیوژن مجدد ۲۴ ساعت) (Sham).
- ۲- شم ایسکمی نر، (ایسکمی ۴۵ دقیقه + پرفیوژن مجدد ۲۴ ساعت) (Sham).
- ۳- ایسکمی ماده، (۴۵ دقیقه ایسکمی + پرفیوژن مجدد ۲۴ ساعت) (IR).
- ۴- ایسکمی نر، (۴۵ دقیقه ایسکمی + پرفیوژن مجدد ۲۴ ساعت) (IR).
- ۵- Postconditioning (۴۵ دقیقه ایسکمی + پرفیوژن مجدد ۲۴ ساعت) (۴×۱۰) ثانیه POC.
- ۶- Postconditioning (۴۵ دقیقه ایسکمی + پرفیوژن مجدد ۲۴ ساعت) (۴×۱۰) ثانیه POC.

بررسی تغییرات فشار سیستولیک: در طول مدت جراحی فشار خون سیستولیک و ضربان قلب با فواصل منظم ۳۰ دقیقه‌ای، توسط Tail Cuff و با استفاده از دستگاه (Power lab, ADI instrument, CA, USA) و امکانات برنامه نرم‌افزاری Chart ویراست ۵/۰/۱ مانیتور شده و حیواناتی که دچار افت فشار سیستولیک تا میزان

درمانی مؤثر جهت کاهش آسیب‌های ناشی از IR در ارگان‌های مختلف بدن انجام شده است. یکی از روش‌های حفاظتی مطرح، Ischemic conditioning است. در این روش دوره‌های کوتاه‌مدت ایسکمی غیر آسیب‌رسان سبب حفاظت ارگان‌ها در برابر دوره‌های طولانی ایسکمی آسیب‌رسان می‌شود. اگر این دوره‌های کوتاه‌مدت ایسکمی بلافاصله پس از پایان ایسکمی آسیب‌رسان و در شروع پرفیوژن مجدد القا شود به آن آماده‌سازی بعدی (Postconditioning, POC) گفته می‌شود.^{۱۱، ۱۲} این روش اولین بار توسط Zhao در سال ۲۰۰۳ مطرح شد.^{۱۲}

مطالعات گوناگونی نشان داده‌اند که دقایق اولیه پرفیوژن مجدد در پاتوژنز آسیب بعد از ایسکمی بسیار مؤثر است و مداخله در این مرحله می‌تواند آسیب‌های ناشی از پرفیوژن مجدد را کاسته و تحمل ارگان ایسکمیک را نسبت به این شرایط افزایش دهد.^{۱۳} تولید زیاد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از قبیل رادیکال سوپر اکساید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل در ارتباط با آسیب‌های ناشی از پرفیوژن مجدد در کلیه مطرح شده است.^{۱۴} ROS نقش مهمی در شروع آپوپتوز ایفا می‌کند و سبب آسیب به بیومولکول‌های موجود در بافت ایسکمیک از جمله اسیدهای نوکلئیک، غشا لیپیدی و آنزیم‌ها و رستورها می‌گردد.^{۱۵، ۱۶} مالون دی‌آلدهید (MDA) یکی از محصولات پراکسیداسیون لیپیدها توسط ROS است که به عنوان شاخصی برای بررسی استرس اکسیداتیو مورد استفاده قرار می‌گیرد.^{۱۷} از طرف دیگر آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز (SOD) به عنوان قسمتی از سیستم آنتی‌اکسیدان، در سم‌زدایی پراکسید هیدروژن و آنیون سوپر اکساید نقش داشته و میزان آن در آسیب ناشی از IR در کلیه کاهش پیدا می‌کند.^{۱۸} از این رو می‌توان افزایش MDA و کاهش SOD را به عنوان شاخص‌هایی که نشان‌دهنده برهم خوردن تعادل بین مواد اکسیدان و آنتی‌اکسیدان در شرایط ایجاد شده توسط استرس اکسیداتیو است در نظر گرفت.^{۱۹، ۲۰}

در مطالعه‌ای که توسط Najafi به منظور بررسی اثرات حفاظتی POC در آسیب حاد کلیوی ناشی از IR در رت‌های نر انجام شد، از MDA به عنوان شاخص استرس اکسیداتیو و از SOD به عنوان شاخصی برای سیستم آنتی‌اکسیدان استفاده شد و دیده شد که در گروه POC در مقایسه با IR کاهش معناداری در میزان MDA و افزایش در میزان SOD وجود دارد که مؤید اثر حفاظتی POC در

یافته‌ها

mmHg ۶۰ می‌شدند از مطالعه حذف شدند.

روش جراحی: همه حیوانات پس از بیهوشی با تزریق داخل صفاقی پنتوباریتال سدیم (۶۰ mg/kg) (Chemische Fabrik Berg GmbH, Germany) توسط برش عرضی در ناحیه شکم نفرکتومی راست شدند و بیهوشی با تزریق دوز نگه‌دارنده پنتوباریتال سدیم (۲۰ mg/kg) ادامه یافت.

در گروه Sham (گروه‌های اول و دوم) تمام اعمال جراحی گروه ایسکمی انجام شده ولی پدیکل کلیوی چپ مسدود نگردید. در گروه ایسکمی- پرفیوژن مجدد (گروه‌های سوم و چهارم) بلافاصله پس از نفرکتومی راست، با استفاده از کلمپ بولداگ به مدت ۴۵ دقیقه پدیکل کلیوی چپ مسدود شد و سپس ۲۴ ساعت پرفیوژن مجدد برقرار شد. برای اطمینان از انسداد کامل جریان خون کلیه می‌توان از رنگ پریدگی آن و برای اطمینان از برقراری مجدد جریان خون کلیه می‌توان از برافروخته شدن رنگ کلیه استفاده کرد. در گروه POC (گروه‌های پنجم و ششم) با استفاده از کلامپ بولداگ ۴۵ دقیقه ایسکمی پدیکل کلیوی چپ داده شد و پس از آن چهار دوره ۱۰ ثانیه‌ای از ایسکمی- پرفیوژن مجدد در شروع پرفیوژن مجدد القا گردید (Postconditioning).

روش نمونه‌گیری: پس از گذشت ۲۴ ساعت از شروع پرفیوژن مجدد، دوباره حیوانات بیهوش شده و خون‌گیری از ورید اجوف تحتانی صورت پذیرفت. با استفاده از روش اسپکتروفتومتری توسط Hitachi 704 autoanalyser, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany، میزان BUN و کراتینین پلاسما به عنوان شاخص‌های عملکردی کلیه اندازه‌گیری شد.

کلیه چپ برای بررسی شاخص‌های استرس اکسیداتیو خارج گردید. قسمتی از نمونه بافتی کلیه برای اندازه‌گیری میزان MDA و فعالیت SOD پس از انجماد سریع در نیتروژن مایع، تا زمان آنالیز در فریزر -70°C نگه‌داری گردید. اندازه‌گیری میزان آنزیم SOD با استفاده از روش Paoletti انجام گرفت و با استفاده از روش Esterbauer و بر اساس واکنش آن با تیوباریتوریک اسید میزان MDA کلیه تعیین گردید.^{۲۳،۲۴} در این تحقیق نتایج بر اساس برنامه آماری SPSS ویراست ۱۱ و آنالیز آماری توسط ANOVA دو طرفه با Post-hoc Tukey انجام پذیرفت. داده‌ها به صورت $\text{Mean} \pm \text{S.E.M}$ ارائه شد و اختلافات معنادار در سطح $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

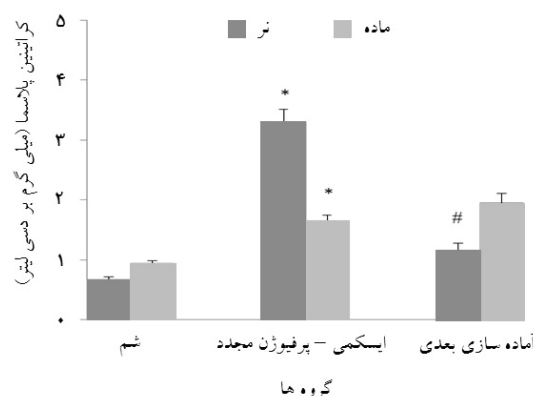
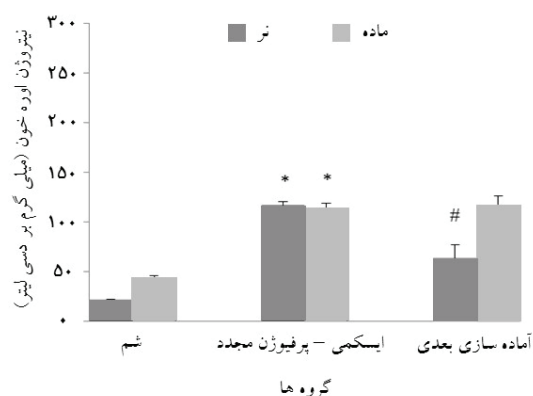
تغییرات شاخص‌های عملکردی کلیه در دو جنس:

تغییرات میزان کراتینین پلاسما: در رت‌های نر، در گروه IR افزایش معناداری نسبت به گروه Sham داشت ($3/3 \pm 0/2$ میلی گرم بر دسی لیتر نسبت به $0/6 \pm 0/04$ میلی گرم بر دسی لیتر، $P < 0/05$) و در گروه POC در مقایسه با گروه IR، میزان آن کاهش معناداری پیدا کرد ($1/1 \pm 0/1$ میلی گرم بر دسی لیتر نسبت به $3/3 \pm 0/2$ میلی گرم بر دسی لیتر، $P < 0/05$). در رت‌های ماده، در گروه IR افزایش معناداری را نسبت به گروه Sham نشان داد ($1/6 \pm 0/09$ میلی گرم بر دسی لیتر نسبت به $0/9 \pm 0/05$ میلی گرم بر دسی لیتر، $P < 0/05$). در گروه POC در مقایسه با گروه IR، میزان کراتینین تفاوت معناداری را نشان نداد ($1/9 \pm 0/1$ میلی گرم بر دسی لیتر نسبت به $1/6 \pm 0/09$ میلی گرم بر دسی لیتر) (نمودار ۱).

تغییرات میزان نیتروژن اوره خون در پلاسما: در رت‌های نر، در گروه IR افزایش معناداری نسبت به گروه Sham داشت ($116/3 \pm 4/5$ میلی گرم بر دسی لیتر نسبت به $21/2 \pm 1/3$ میلی گرم بر دسی لیتر، $P < 0/05$) و در گروه POC در مقایسه با گروه IR، میزان آن کاهش معناداری پیدا کرد ($62/8 \pm 14/3$ میلی گرم بر دسی لیتر نسبت به $116/3 \pm 4/5$ میلی گرم بر دسی لیتر، $P < 0/05$). در رت‌های ماده، در گروه IR افزایش معناداری را نسبت به گروه Sham نشان داد ($114/2 \pm 4/6$ میلی گرم بر دسی لیتر نسبت به $43/8 \pm 2/4$ میلی گرم بر دسی لیتر، $P < 0/05$). در گروه POC در مقایسه با گروه IR، میزان نیتروژن اوره خون تفاوت معناداری را نشان نداد ($116/3 \pm 10/1$ میلی گرم بر دسی لیتر نسبت به $114/2 \pm 4/6$ میلی گرم بر دسی لیتر) (نمودار ۲).

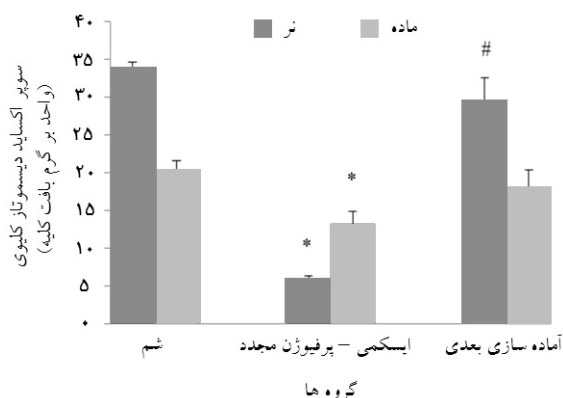
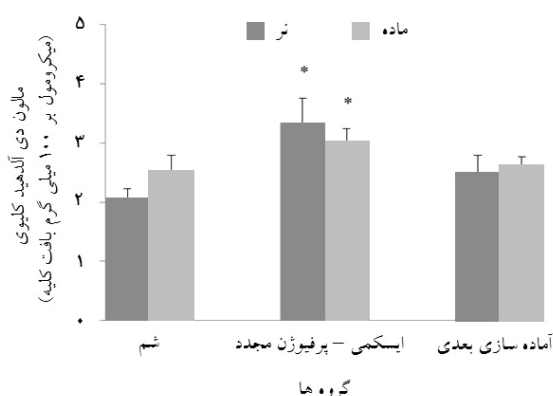
برای ارزیابی تغییرات میزان استرس اکسیداتیو در بافت کلیه در دو جنس میزان SOD و MDA بافت کلیه اندازه‌گیری شد.

میزان آنزیم SOD بافت کلیه: در رت‌های نر، میزان آنزیم سوپر اکساید دیسموتاز در گروه IR کاهش معناداری نسبت به گروه Sham داشت ($5/9 \pm 0/4$ واحد بر گرم بافت نسبت به $33/9 \pm 0/7$ واحد بر گرم بافت، $P < 0/05$) و در گروه POC در مقایسه با گروه IR، میزان آن افزایش معناداری پیدا کرد ($29/5 \pm 3/05$ واحد بر گرم بافت نسبت به $5/9 \pm 0/4$ واحد بر گرم بافت، $P < 0/05$). در رت‌های ماده، میزان



نمودار ۲: تغییرات غلظت نیتروژن اوره خون در پلاسما گروه‌های مختلف. نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار در هر گروه می‌باشد. * اختلاف معنادار را نسبت به گروه شام همان جنس در سطح $P < 0.05$ نشان می‌دهد. # اختلاف معنادار را نسبت به گروه ایسکمی - پرفیوژن مجدد همان جنس در سطح $P < 0.05$ نشان می‌دهد.

نمودار ۱: تغییرات غلظت کراتینین در پلاسما گروه‌های مختلف. نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار در هر گروه می‌باشد. * اختلاف معنادار را نسبت به گروه شام همان جنس در سطح $P < 0.05$ نشان می‌دهد. # اختلاف معنادار را نسبت به گروه ایسکمی - پرفیوژن مجدد همان جنس در سطح $P < 0.05$ نشان می‌دهد.



نمودار ۴: تغییرات غلظت میزان مالون دی‌آلدید (MDA) بافت کلیه در گروه‌های مختلف. نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار در هر گروه می‌باشد. * اختلاف معنادار را نسبت به گروه شام همان جنس در سطح $P < 0.05$ نشان می‌دهد.

نمودار ۳: تغییرات غلظت آنزیم سوپراکساید دیسموتاز (SOD) بافت کلیه در گروه‌های مختلف. نتایج به صورت میانگین \pm خطای معیار در هر گروه می‌باشد. * اختلاف معنادار را نسبت به گروه شام همان جنس در سطح $P < 0.05$ نشان می‌دهد. # اختلاف معنادار را نسبت به گروه ایسکمی - پرفیوژن مجدد همان جنس در سطح $P < 0.05$ نشان می‌دهد.

بر گرم بافت (نمودار ۳).

میزان MDA بافت کلیه: در رت‌های نر، میزان MDA در گروه IR افزایش معناداری نسبت به گروه Sham داشت 3.3 ± 0.4 میکرومول بر ۱۰۰ میلی‌گرم بافت نسبت به 2.06 ± 0.1 میکرومول بر ۱۰۰ میلی‌گرم بافت، $P < 0.05$ و در گروه POC در مقایسه با گروه IR،

آنزیم سوپراکساید دیسموتاز در گروه IR کاهش معناداری را نسبت به گروه Sham نشان داد 13.1 ± 1.7 واحد بر گرم بافت نسبت به 20.3 ± 1.2 واحد بر گرم بافت، $P < 0.05$. در گروه POC در مقایسه با گروه IR، میزان آنزیم سوپراکساید دیسموتاز تفاوت معناداری را نشان نداد 17.7 ± 2.6 واحد بر گرم بافت نسبت به 13.1 ± 1.7 واحد

تحقیقات گوناگون بیان‌گر این حقیقت هستند که زنان و مردان در تحمل ضایعات کلیوی توانایی‌های متفاوتی دارند و تفاوت جنسیت در میزان بروز و پیشرفت بیماری‌های کلیوی موضوع جالب توجهی برای دانشمندان می‌باشد.^{۲۴} در این راستا و در مطالعه‌ای که توسط Park به منظور بررسی این تفاوت صورت گرفت، ۳۰ دقیقه پس از القای ایسکمی دو طرفه کلیه عملکرد کلیه موش‌های نر دچار آسیب قابل توجهی شد در حالی که شدت این آسیب در موش‌های ماده به‌طور معناداری کم‌تر از نرها بود.^{۲۵} در مطالعه دیگری، Fekete پس از نفرکتومی راست و القای ۵۵ دقیقه ایسکمی کلیه چپ در هر دو جنس، مشاهده کرد که رت‌های ماده نسبت به رت‌های نر پس از IR کلیوی اختلال کم‌تری را در شاخص‌های عملکردی متحمل شده‌اند در حالی که شدت این آسیب در رت‌های نر به‌طور معناداری بیش‌تر بود.^{۲۶} در همین راستا، Takaoka نشان داد که تزریق ۱۷ بتا استرادیول سبب کاهش معناداری در میزان نیتروژن اوره خون و کراتینین رت‌های نری که در معرض ۴۵ دقیقه ایسکمی قرار گرفته بودند شده است.^{۲۷}

نتایج مطالعه حاضر نیز با مطالعات قبلی همسو بود. آسیب حاد کلیه به‌دنبال IR از مشکلات کلینیکی مهمی است که با وجود تمام پیشرفت‌هایی که در زمینه مراقبت از بیماران صورت گرفته است هنوز مرگ و میر آن بالاست.^۵ نتایج مطالعات گوناگون بر این نکته تاکید دارند که دقایق اولیه پرفیوژن مجدد تاثیر زیادی در پاتوژنز آسیب بعد از ایسکمی دارد و دستکاری در این مرحله می‌تواند از آسیب‌های ناشی از پرفیوژن مجدد بکاهد.^{۱۴}

محققین روش‌های درمانی گوناگونی را جهت کاستن آسیب ناشی از IR در ارگان‌های گوناگون بدن و از جمله کلیه معرفی کرده‌اند که از آن جمله می‌توان به آماده‌سازی بعدی POC اشاره کرد.^{۱۰} POC یک متد ساده، کم خطر و فراهم کننده یک روش جدید جهت محافظت از ارگان‌های مختلف به‌خصوص قلب، کبد و کلیه در کاهش آسیب‌های ناشی از IR می‌باشد. در سال‌های اخیر Chen و هم‌چنین Yun با استفاده از شش دوره ۱۰ ثانیه‌ای از POC توانستند عملکرد کلیه آسیب دیده را بهبود ببخشند.^{۲۸، ۲۹} در این مطالعه نیز POC اثر محافظت‌کننده بر شاخص‌های عملکردی کلیه در مقابل آسیب ناشی از IR در رت‌های نر داشت. در مطالعات دیگری که جهت بررسی اثرات حفاظتی POC در قلب انجام شده

میزان آن تفاوت معناداری پیدا نکرد ($2/4 \pm 0/3$ میکرومول بر ۱۰۰ میلی گرم بافت نسبت به $3/3 \pm 0/4$ میکرومول بر ۱۰۰ میلی گرم بافت). در رت‌های ماده، میزان MDA در گروه IR افزایش معناداری نسبت به گروه Sham داشت ($3/01 \pm 0/2$ میکرومول بر ۱۰۰ میلی گرم بافت نسبت به $2/5 \pm 0/2$ میکرومول بر ۱۰۰ میلی گرم بافت، $P < 0/05$) و در گروه POC در مقایسه با گروه IR، میزان مالون دی‌آلدهید تفاوت معناداری پیدا نکرد ($2/6 \pm 0/1$ میکرومول بر ۱۰۰ میلی گرم بافت نسبت به $3/01 \pm 0/2$ میکرومول بر ۱۰۰ میلی گرم بافت) (نمودار ۴).

بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که آسیب حاد کلیوی القا شده بر اثر ایسکمی- پرفیوژن مجدد کلیه چپ به همراه نفرکتومی کلیه مقابل، موجب افزایش میزان کراتینین و نیتروژن اوره خون در پلاسما هر دو جنس می‌شود. این افزایش به‌خصوص در رت‌های نر بسیار قابل توجه بود به طوری که در میزان کراتینین تفاوت معناداری بین حیوانات نر و ماده دیده شد. نیتروژن اوره خون و کراتینین به عنوان شاخص‌های عملکردی کلیه در نظر گرفته می‌شوند و افزایش غلظت آن‌ها نشان‌دهنده کاهش عملکرد کلیه در گروه IR است. به‌علاوه، در این مطالعه استفاده از POC به‌عنوان روشی جهت کاستن آسیب ناشی از IR به صورت القای چهار دوره ۱۰ ثانیه‌ای از ایسکمی و پرفیوژن مجدد توانست سبب اثرات حفاظتی به صورت کاهش معنادار غلظت کراتینین و نیتروژن اوره خون پلاسما این گروه در مقایسه با گروه IR در رت‌های نر شود که این میزان بهبودی در شاخص‌های عملکردی کلیه در گروه POC در رت‌های ماده دیده نشد. هم‌چنین، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که POC از طریق افزایش فعالیت SOD به عنوان شاخصی از فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان و کاهش میزان MDA به عنوان شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها در کلیه می‌تواند تنها در حیوانات نر اثر حفاظتی در مقابل IR داشته باشد.

شواهد در حال رشدی وجود دارند که نشان می‌دهند تحمل آسیب‌های ناشی از ایسکمی در ارگان‌های مختلف وابسته به جنسیت بوده و میزان بروز و پیشرفت آسیب‌های ناشی از ایسکمی در دو جنس تفاوت چشمگیری با یک‌دیگر دارد.^{۱-۳} هم‌چنین، نتایج

اکسیداتیو وجود دارد که مؤید اثر حفاظتی POC در کاهش آسیب ناشی از IR در جنس نر می‌باشد.^{۳۱} نتایج حاصل از مطالعه حاضر نیز موید اثرات فوق بوده و نشان داد که POC در حیوانات نر از طریق کاهش استرس اکسیداتیو سبب حفاظت از کلیه در مقابل آسیب ناشی از IR می‌گردد که در بررسی تفاوت بین دو جنس این اثر حفاظتی در رت‌های ماده دیده نشد.

این مطلب که برای ایجاد اثرات حفاظتی POC نیاز به یک حد آستانه وجود دارد تا با گذشتن از آن نقطه مکانیسم‌های حفاظتی مؤثر در POC شروع به فعالیت کنند مورد موافقت همگان می‌باشد.^{۳۲} می‌توان گفت به دلیل مقاومت ذاتی بالاتری که در مقابل آسیب‌های ناشی از ایسکمی در جنس مونث وجود دارد، POC در جنس ماده به اندازه نر قوی نیست و لذا آستانه ایجاد این اثرات حفاظتی در آن‌ها بالاتر و متفاوت از جنس مذکر است.^{۳۴} در نتیجه به منظور موثر واقع شدن این روش یا باید مدت زمان ایسکمی را تغییر داد و یا با تغییر در پروتکل درمان و قوی‌تر کردن آن، به نتیجه دلخواه رسید.^{۳۵ و ۳۶} نتایج فوق به این نکته اشاره دارند که جنسیت در تعدیل مکانیسم‌های مؤثر در ایجاد اثرات حفاظتی ناشی از POC نقش تعیین کننده‌ای دارد و POC در این مطالعه اثر حفاظتی بر آسیب ناشی از IR در کلیه رت‌های ماده نداشت در حالی که این روش در رت‌های نر مؤثر واقع شد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی تفاوت دو جنس در اثر حفاظتی آماده‌سازی بعدی (Postconditioning) بر آسیب حاد کلیوی ناشی از ایسکمی - پرفیوژن مجدد در موش صحرایی" در مقطع کارشناسی ارشد در سال ۱۳۹۲ و کد ۸۱ می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران اجرا شده است.

است، Crisostomo نشان داد که القای POC پس از ۲۵ دقیقه ایسکمی در قلب رت‌های نر اثر حفاظتی در مقابل افزایش فشار توسعه یافته بطن چپ دارد و سبب کاهش فشار پایان دیاستولی می‌گردد در حالی که این اثرات حفاظتی در قلب رت‌های ماده دیده نشده است.^{۳۰} Dow و Kloner در سال ۲۰۰۷ و هم‌چنین Penna نیز در این راستا به نتایج مشابهی مبنی بر ناکارآمدی POC بر حفاظت از آسیب ناشی از IR در جنس ماده دست پیدا کردند.^{۳۲ و ۳۱}

مطالعات گوناگونی استرس اکسیداتیو را به عنوان فاکتور پاتوفیزیولوژیک مؤثر در گسترش آسیب‌های ناشی از IR معرفی کرده‌اند. در شرایط طبیعی بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و سیستم آنتی‌اکسیدان تعادلی وجود دارد که در طی شرایط آسیب‌رسان پس از پرفیوژن مجدد، یا تولید ROS افزایش پیدا می‌کند و یا به دلیل کاهش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدان، حذف شدن آن به کندی صورت می‌گیرد که هر دو پدیده منجر به افزایش استرس اکسیداتیو در بافت مربوطه می‌شود.^{۱۶}

در سال ۲۰۰۹، Yun نشان داد که POC می‌تواند باعث افزایش چشمگیری در فعالیت SOD، کاتالاز (CAT) و گلوکاتیون پراکسیداز (GSH-Px) به عنوان شاخصی از فعالیت سیستم اکسیدان و کاهش میزان MDA به عنوان شاخصی برای بررسی استرس اکسیداتیو در کلیه گردد.^{۱۷} در همین راستا در سال ۲۰۱۱، Golab نشان داد که گنادکومی رت‌های نر میزان استرس اکسیداتیو و غلظت سایتوکین‌های پیش التهابی کبدی را به دنبال اورمی حاد کاهش می‌دهد. هم‌چنین مشاهده کردند که رت‌های نر میزان MDA بالاتر و گلوکاتیون تام کم‌تری داشتند.^{۳۳} Najafi در مطالعه‌ای که بر روی رت‌های نر انجام داد به این نتیجه رسید که در گروه POC در مقایسه با IR کاهش معناداری در میزان پراکسیداسیون لیپیدها و استرس

References

1. Lansky AJ, Ng VG, Maehara A, Weisz G, Lerman A, Mintz GS, et al. Gender and the extent of coronary atherosclerosis, plaque composition, and clinical outcomes in acute coronary syndromes. *JACC Cardiovasc Imaging* 2012;5(3 Suppl):S62-72.
2. Fairbanks SL, Young JM, Nelson JW, Davis CM, Koerner IP, Alkayed NJ. Mechanism of the sex difference in neuronal ischemic cell death. *Neuroscience* 2012;219:183-91.
3. de Vries HA, Ponds FA, Nieuwenhuijs VB, Morphet A, Padbury RT, Barritt GJ. Evidence that estrogen receptors play a limited role in mediating enhanced recovery of bile flow in female rats in the acute phase of liver ischemia reperfusion injury. *Ann Hepatol* 2013;12(1):130-7.
4. Metcalfe PD, Meldrum KK. Sex differences and the role of sex steroids in renal injury. *J Urol* 2006;176(1):15-21.

5. Duff GL, More RH. Bilateral cortical necrosis of kidneys. *Am J Med Sci* 1941;201:429-450.
6. Wei Q, Wang MH, Dong Z. Differential gender differences in ischemic and nephrotoxic acute renal failure. *Am J Nephrol* 2005;25(5):491-9.
7. Hutchens MP, Dunlap J, Hurn PD, Jarnberg PO. Renal ischemia: does sex matter? *Anesth Analg* 2008;107(1):239-49.
8. Chertow GM, Lazarus JM, Paganini EP, Allgren RL, Lafayette RA, Sayegh MH. Predictors of mortality and the provision of dialysis in patients with acute tubular necrosis. The Auriculin Anaritide Acute Renal Failure Study Group. *J Am Soc Nephrol* 1998;9(4):692-8.
9. Mehta RL, Pascual MT, Gruta CG, Zhuang S, Chertow GM. Refining predictive models in critically ill patients with acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2002;13(5):1350-7.
10. Serviddio G, Romano AD, Gesualdo L, Tamborra R, Di Palma AM, Rollo T, et al. Postconditioning is an effective strategy to reduce renal ischaemia/reperfusion injury. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23(5):1504-12.
11. Szwarc I, Soullier S, Gayrard N, Mejean C, Mourad G, Argiles A. Ischemic postconditioning prevents ischemic acute renal failure. *Transplant Proc* 2007;39(8):2554-6.
12. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285(2):H579-88.
13. Liu X, Chen H, Zhan B, Xing B, Zhou J, Zhu H, et al. Attenuation of reperfusion injury by renal ischemic postconditioning: the role of NO. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;359(3):628-34.
14. Sener G, Tuğtepe H, Yüksel M, Cetinel S, Gedik N, Yeğen BC. Resveratrol improves ischemia/reperfusion-induced oxidative renal injury in rats. *Arch Med Res* 2006;37(7):822-9.
15. Singh D, Kaur R, Chander V, Chopra K. Antioxidants in the prevention of renal disease. *J Med Food* 2006;9(4):443-50.
16. Serviddio G, Di Venosa N, Federici A, D'Agostino D, Rollo T, Prigigallo F, et al. Brief hypoxia before normoxic reperfusion (postconditioning) protects the heart against ischemia-reperfusion injury by preventing mitochondria peroxide production and glutathione depletion. *FASEB J* 2005;19(3):354-61.
17. Yun Y, Duan WG, Chen P, Wu HX, Shen ZQ, Qian ZY, et al. Ischemic postconditioning modified renal oxidative stress and lipid peroxidation caused by ischemic reperfusion injury in rats. *Transplant Proc* 2009;41(9):3597-602.
18. Annuk M, Zilmer M, Lind L, Linde T, Fellström B. Oxidative stress and endothelial function in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2001;12(12):2747-52.
19. Khattab M, Ahmad M, Al-Shabanah OA, Raza M. Effects of losartan on blood pressure, oxidative stress, and nitrate/nitrite levels in the nitric oxide deficient hypertensive rats. *Receptors Channels* 2004;10(5-6):147-57.
20. Kitiyakara C, Chabrashvili T, Chen Y, Blau J, Karber A, Aslam S, et al. Salt intake, oxidative stress, and renal expression of NADPH oxidase and superoxide dismutase. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(11):2775-82.
21. Najafi A, Kadkhodae M, Seifi B, Delavari F, Khastar H, Shams S, Shahidi H. Evaluation of protective effects of postconditioning on ischemia/reperfusion-induced acute kidney injury. *Pejouhandeh* 2011;15(6):280-6.
22. Paoletti F, Mocali A. Changes in Cu Zn-superoxide dismutase during induced differentiation of murine erythro leukemia cells. *Cancer Res* 1988;48:6674-7.
23. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. *Methods Enzymol* 1990;186:407-21.
24. Kher A, Meldrum KK, Wang M, Tsai BM, Pitcher JM, Meldrum DR. Cellular and molecular mechanisms of sex differences in renal ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2005;67(4):594-603.
25. Park KM, Kim JI, Ahn Y, Bonventre AJ, Bonventre JV. Testosterone is responsible for enhanced susceptibility of males to ischemic renal injury. *J Biol Chem* 2004;279(50):52282-92.
26. Fekete A, Vannay A, Vêr A, Rusai K, Müller V, Reusz G, et al. Sex differences in heat shock protein 72 expression and localization in rats following renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006;291(4):F806-11.
27. Takaoka M, Yuba M, Fujii T, Ohkita M, Matsumura Y. Oestrogen protects against ischaemic acute renal failure in rats by suppressing renal endothelin-1 overproduction. *Clin Sci (Lond)* 2002;103 Suppl 48:434S-7S.
28. Chen H, Xing B, Liu X, Zhan B, Zhou J, Zhu H, et al. Ischemic postconditioning inhibits apoptosis after renal ischemia/reperfusion injury in rat. *Transpl Int* 2008;21(4):364-71.
29. Yun Y, Duan WG, Chen P, Wu HX, Shen ZQ, Qian ZY, et al. Down-regulation of cyclooxygenase-2 is involved in ischemic postconditioning protection against renal ischemia reperfusion injury in rats. *Transplant Proc* 2009;41(9):3585-9.
30. Crisostomo PR, Wang M, Wairiuko GM, Terrell AM, Meldrum DR. Postconditioning in females depends on injury severity. *J Surg Res* 2006;134(2):342-7.
31. Dow J, Kloner RA. Postconditioning does not reduce myocardial infarct size in an in vivo regional ischemia rodent model. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2007;12(2):153-63.
32. Penna C, Tullio F, Merlino A, Moro F, Raimondo S, Rastaldo R, et al. Postconditioning cardioprotection against infarct size and post-ischemic systolic dysfunction is influenced by gender. *Basic Res Cardiol* 2009;104(4):390-402.
33. Golab F, Kadkhodae M, Xu J, Soleimani M. Male susceptibility to hepatic damage in acute uremia in rats. *Urology* 2011;78(1):232.e1-6.
34. Pitcher JM, Nagy RD, Tsai BM, Wang M, Kher A, Meldrum DR, et al. Is the preconditioning threshold different in females? *J Surg Res* 2005;125(2):168-72.
35. Tsuchida A, Liu GS, Mullane K, Downey JM. Adenosine lowers temporal threshold for the myocardial infarct size limiting effect of preconditioning. *Cardiovasc Res* 1993;27(1):116-20.

Evaluation of the gender difference in the protective effects of ischemic postconditioning on ischemia-reperfusion- induced acute kidney injury in rats

Atefeh Mahmoudi M.Sc.¹
Mehri Kadkhodae Ph.D.^{1*}
Fereshteh Golab Ph.D.²
Atefeh Najafi Ph.D. Student³
Zahra Sedaghat Ph.D.⁴
Parisa Ahghari Ph.D. Student¹

1- Department of Physiology,
Medical School, Tehran University
of Medical Sciences, Tehran, Iran.

2- Cellular and Molecular Research
Center, Iran University of Medical
Sciences, Tehran, Iran.

3- Department of Anatomy, Medical
School, Tehran University of
Medical Sciences, Tehran, Iran.

4- Department of Physiology and
Pharmacology, Medical School,
Bushehr University of Medical
Sciences, Bushehr, Iran.

* Corresponding author: Department of
Physiology, Medical School, Tehran
University of Medical Sciences, Porsina
Ave., Tehran, Iran.
Tel: +98- 21- 64053288
E-mail: kadkhodm@tums.ac.ir

Abstract

Received: July 21, 2013 Accepted: August 17, 2013

Background: Several studies indicate that gender differences exist in tolerance of the kidney to ischemia reperfusion (IR) injury. Recently, postconditioning (POC), induction of brief repetitive periods of IR, has been introduced to reduce the extent of the damage to the kidney. This method was shown to attenuate renal IR injury by modifying oxidative stress and reducing lipid peroxidation. Considering the gender effect on the results of several treatment methods, in this study, we investigated the impact of gender on the protective effect of POC on the rat kidney.

Methods: In this study, after right nephrectomy, 48 male and female rats were randomly divided into 6 groups of 8 rats: In IR group, with the use of bulldog clamp, 45 minutes of left renal artery ischemia was induced followed by 24 hours of reperfusion. In the sham group, all of the above surgical procedures were applied except that IR was not induced. In the POC group, after the induction of 45 minutes ischemia, 4 cycles of 10 seconds of intermittent ischemia and reperfusion were applied before restoring of blood to the kidney. 24 hours later, serum and renal tissue samples were collected for renal functional monitoring and oxidative stress evaluation.

Results: Postconditioning attenuated renal dysfunction considering the significant decrease in plasma creatinine and BUN compared with IR group only in male rats ($P<0.05$). Also, POC attenuated oxidative stress in male rats' kidney tissues as demonstrated by a significantly reduced malondialdehyde (MDA) level and increased superoxide dismutase (SOD) activity ($P<0.05$). In female rats, there were no changes in functional markers and oxidative stress status in POC group compared to IR group.

Conclusion: Considering gender difference, POC had protective effect against IR injury by attenuating functional and oxidative stress markers in male rat kidneys. This protective effect was not seen in female rats.

Keywords: ischemic, kidney, postconditioning, sex difference.